

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-075887

(43)Date of publication of application : 23.03.1999

(51)Int.Cl.

C12P 21/04
C07K 1/02
C07K 14/47

(21)Application number : 09-238067

(71)Applicant : AJINOMOTO CO INC

(22)Date of filing : 03.09.1997

(72)Inventor : KOBAYASHI KATSUNORI
YAMANAKA SHIGERU
IZAWA YUUKO

(54) CONVERSION OF PROTEIN INTO CROSS-LINKED POLYMER WITH PEROXIDASE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To modify a peptide and/or a protein such as fish meat or milk protein in a state free from the affection of oxygen and from the difference of reactivity and apply the method to the production of various kinds of foods by allowing a peroxide to act on the peptide and/or the protein.

SOLUTION: This method for converting a peptide and/or a protein into a cross-linked polymer comprises allowing a peroxidase to act on the peptide and/or the protein. For example, a peroxidase (may be produced from a recombinant made up by a genetic engineering means) extracted or purified from a crude peroxidase produced by an animal, a plant or a microorganism in vivo or in vitro is allowed to act on a peptide and/or a protein which each has a tyrosine residue and can receive the catalytic action of the peroxidase, thus producing a cross-linked polymer.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-75887

(43)公開日 平成11年(1999) 3月23日

(51)Int.Cl.⁸

識別記号

F I

C 1 2 P 21/04

C 1 2 P 21/04

C 0 7 K 1/02

C 0 7 K 1/02

14/47

14/47

審査請求 未請求 請求項の数1 OL (全 3 頁)

(21)出願番号

特願平9-238067

(22)出願日

平成9年(1997) 9月3日

(71)出願人 000000066

味の素株式会社

東京都中央区京橋1丁目15番1号

(72)発明者 小林 克徳

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社中央研究所内

(72)発明者 山中 茂

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社中央研究所内

(72)発明者 井澤 有子

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社中央研究所内

(54)【発明の名称】 ペルオキシダーゼによる蛋白質の架橋高分子化方法

(57)【要約】

【課題】 酵素によるペプチド及び/又は蛋白質の新規高分子化方法の提供を目的とする。

【解決手段】 ペプチド及び/又は蛋白質にペルオキシダーゼを作用させることにより、ペプチド及び/又は蛋白質を架橋高分子化する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ペプチド及び/又は蛋白質にペルオキシダーゼを作用させることを特徴とするペプチド及び/又は蛋白質の架橋高分子化方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ペプチド及び/又は蛋白質を酵素により架橋高分子化する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】ペプチド及び/又は蛋白質を架橋高分子化させる方法としては、従来、加熱、加圧などの物理的方法、又は、pHの調整などの化学的方法などが行われてきた。近年、これらの方法に代わり、蛋白質等の原料の基本的性質を著しく変化させることのない、より穏やかな条件下で架橋高分子化させる方法として、酵素を用いる技術の開発が進められてきている。蛋白質やペプチドを架橋させる酵素を用いて、蛋白質やペプチドを架橋高分子化させることにより改質する方法としては、例えば以下のものが知られている。

【0003】トランスグルタミナーゼは、ペプチド鎖中のグルタミン残基の γ -カルボキサミド基のアシル転移反応を触媒する酵素である。アシル受容体としてペプチド鎖中のリジン残基の ϵ -アミノ基が作用すると、蛋白質間に ϵ -(γ -Glu) Lys 架橋結合が形成される。この反応を利用してペプチド及び/又は蛋白質を架橋高分子化する技術が実用化されている(特開昭58-149645、特公平6-85280)。

【0004】リジロキシダーゼは、ペプチド鎖中のリジン残基をアリジン残基にする酸化的脱アミノ反応を触媒する。アリジン残基にペプチド鎖中のリジン残基が作用すると、ペプチド鎖間に架橋結合が形成する。この反応を利用すればペプチド及び/又は蛋白質原料の架橋高分子化による改質が可能である(特開平2-245145)。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】上記に示したような酵素によるペプチド及び/又は蛋白質の架橋高分子化方法には、以下のような問題を有する。酵素を利用するため、酵素の基質特異性に影響を受け、蛋白質原料の差異により、反応性が異なる。また、トランスグルタミナーゼなどは、酵素に不安定であるなどの問題を有する。それゆえ、新しい酵素反応による架橋高分子化方法を提供することは、これらの問題を解決する可能性がある。

【0006】従って、本発明の目的は、これまでの蛋白質原料の架橋高分子化に用いられる酵素とは反応機構の異なる、新たな酵素反応による蛋白質及び/又はペプチドの架橋高分子化方法を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者等は上記課題を解決する為に、新たにペプチド及び/又は蛋白質を含む

原料を架橋高分子化できる酵素を探索した。その結果、ペルオキシダーゼを用いることで蛋白質を含む原料を架橋高分子化することができることを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明はペプチド及び/又は蛋白質にペルオキシダーゼを作用させることを特徴とするペプチド及び/又は蛋白質の架橋高分子化方法である。以下、本発明について詳細に説明する。

【0008】

【発明の実施の形態】本発明でいうペルオキシダーゼとは、 $AH_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + A$ の反応を触媒する酵素のことである。この酵素は広く動物、植物、微生物界に存在している。

【0009】本発明で利用可能なペルオキシダーゼは、上記の反応を触媒するものであれば良く、その起源は問わない。即ち、上記動物、植物、微生物が生体内又は生体外に生産したものより抽出あるいは精製したものを利用すればよい。また、遺伝子工学的手法により作出された組換え体により生産されたものでも利用可能である。勿論、市販されている試薬を購入して使用しても構わない。

【0010】また、基質となるペプチド又は蛋白質原料は、チロシン残基を有し、ペルオキシダーゼの触媒を受けるものであれば、その起源、性状には制約されない。例えば、蛋白質としては大豆蛋白質、小麦蛋白質等の植物性蛋白質、乳蛋白質(カゼイン等)、ゼラチン、コラーゲン等の動物性蛋白質あるいは微生物蛋白質などいずれも使用できる。また、ペプチドとしては上記蛋白質をプロテアーゼや酸で部分加水分解したものや、ペプチド合成により得られたペプチド等も使用できる。

【0011】1)上記蛋白質及び/又はペプチドそれ自体、又は2)上記蛋白質及び/又はペプチドを含む原料に、過酸化水素とペルオキシダーゼを添加することで、架橋高分子化物が得られる。尚、本発明に於いて、架橋高分子化物とは高粘性物及びゲル状物のいずれも含むものとする。また、作用される蛋白質の量と質及び添加するペルオキシダーゼの量を工夫することで生成物の粘度を変えることが可能である。

【0012】以下に反応条件について記述する。ペルオキシダーゼは、基質となる蛋白質及び/又はペプチド1gに対して、0.1~10000000unit、好ましくは1~1000000unit添加すればよい。また、過酸化水素は反応液当たり0.001~1.0%、好ましくは0.01~0.1%になるように添加すればよい。

【0013】反応溶液のpHは通常4~10、好ましくは5~9の範囲になるように調整すればよい。又、反応温度は通常5~80℃、好ましくは30~60℃で10分~48時間反応させればよい。これにより目的とする高粘性物又はゲル状物等の架橋高分子化物が得られる。

【0014】蛋白質及び/又はペプチドを含む食品素材

を原料として、ペルオキシダーゼを作用させることにより各種食品を調製することができる。例えば、魚肉すり身にペルオキシダーゼを作用させる蒲鉾等の練り製品を得ることができる。また、乳蛋白にペルオキシダーゼを作用させるとチーズなどの乳製品を得ることができる。尚、ペルオキシダーゼを使用して各種食品を調製する場合には、ペルオキシダーゼを作用させる以外は通常の調製法に準じて行えばよい。

【0015】

【実施例】以下に本発明の実施例について述べる。尚、本発明の技術的範囲は下記の実施例に限定されるものではない。

【0016】（実施例1）蛋白質基質としては、牛血清アルブミン又はチオグロブリンを用いた。蛋白質濃度5mg/mlの各溶液に、ペルオキシダーゼ（西洋ワサビ由来、シグマ社製）を300unit/ml、過酸化水素を0.1%となるように添加した。その後、反応液の

pHを8に調製した後、37℃で一晩反応させた。対照としては、15分間煮沸して失活したペルオキシダーゼを用いた。反応終了後、両者を比較すると、ペルオキシダーゼを添加した蛋白質溶液は架橋高分子化して著しく粘度が増していた。一方、対照品は反応前の状態と全く変化が見られなかった。この結果より、蛋白質溶液にペルオキシダーゼを反応させることにより、蛋白質を架橋高分子化させることが可能であることが明らかになった。

10 【0017】

【発明の効果】ペプチド及び/又は蛋白質にペルオキシダーゼを添加作用させることでペプチド及び/又は蛋白質を架橋高分子化することができる。本発明の方法は各種食品素材の改質や種々の食品の製造に応用できると考えられる。また、本発明の方法はトランスグルタミナーゼによるペプチド及び/又は蛋白質の架橋高分子化法に比して、酸素による影響が少ないという利点もある。